

1961

F. Tereoli



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554408_0092

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. P. Klein)

DER EINFLUSS VON PFLANZLICHEN WUCHSSTOFFEN

AUF ATMUNG UND GÄRUNG VON BÄCKERHEFE

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät

der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

FERENC PEREDI

aus Budapest/Ungarn



MAINZ

1962

Dekan: Prof. Dr. Dr. K. Lang
Referent: Prof. Dr. Dr. G. Gillissen
Korreferent: Prof. Dr. P. Klein
Tag der mündlichen Prüfung: 15. November 1961

GESAMTHERSTELLUNG:

DITTERS BÜRODIENST, MAINZ, Augustinerstraße 64-66

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung und Ziel der Arbeit

Eigene Versuche

II. Material und Methoden

III. Ergebnisse

IV. Diskussion

V. Zusammenfassung

I. EINLEITUNG UND ZIEL DER ARBEIT

Über den Einfluß von Pflanzenhormonen bzw. von synthetischen pflanzenhormonartigen Stoffen auf Mikroorganismen gibt es in der Literatur nur wenige Hinweise. Medgyesi, Koller, Katona beobachteten eine Beeinflussung von Diphtherie-Bakterien im Sinne einer Wachstumshemmung oder Stimulierung durch verschiedene synthetische Pflanzenhormon-Präparate.

Dubos fand, daß Indolylessigsäure gegen gram-negative Bakterien am wirksamsten ist, während Mykobakterien gegen Indol-3-propionsäure am empfindlichsten waren. Bei Streptokokken hatte Trijodbenzoesäure den größten Effekt. Dubos fand ferner, daß der Hemmeffekt der Auxine mit der Acidität zunimmt. Medgyesi und Katona beschrieben ferner, daß Abkömmlinge der Phenoxyessigsäure das Wachstum boviner Tuberkelbakterien hemmen. Die Autoren nehmen an, daß es sich dabei im wesentlichen um eine gegen Nikotinsäureamid gerichtete Wirkung handelt (Übersicht über pflanzliche Wuchsstoffe s. Audus).

Nachstehend soll untersucht werden, ob bei Verwendung von Bäckerhefe, bei welcher sehr leicht der O_2 -Verbrauch und die CO_2 -Bildung gemessen werden kann, pflanzliche Wuchsstoffe einen unterschiedlichen Einfluß auf Atmung und Gärung haben. Vergleichsweise sollten noch einige cytostatische Stoffe wie beispielsweise Sinalost in die Untersuchung einbezogen werden.

II. MATERIAL UND METHODEN

Alle Versuche wurden mit einer frischen käuflichen Bäckerhefe durchgeführt. Die Gewichtsangaben beziehen sich stets auf das Feuchtgewicht. Fehlermöglichkeiten, die durch einen unterschiedlichen Wassergehalt zustande kommen können, wurden dadurch ausgeschaltet, daß zu jedem Versuch gleichzeitig eine oder mehrere Kontrollreihen mit einer Einsaat desselben Hefematerials angesetzt wurden.

Untersucht wurden die nachstehend angegebenen pflanzlichen Wuchsstoffe nebst einigen Cytostatica. Im einzelnen wurden folgende Stoffe benutzt (die Herkunft der Stoffe ist in Klammern angegeben):

- 1) Phenylelessigsäure (PE); Acidum phenylaceticum purum; $C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot CO_2H$
- 2) o-Chloro-phenoxy-acetic-acid (o-CPA) (L. Light)
- 3) a-Naphthalene-acetic acid (a-NA) (L. Light)

- 4) p-Chloro-phenoxy-acetic-acid (p-CPA) (L. Light)
- 5) 4-Aminophenoxyglutamic-acid (L. Light)
- 6) γ -(3-Indolyle)-n-butyric-acid (L. Light)
- 7) 3-Indolyle-acetic-acid (L. Light)
- 8) 6-Mercaptopurin (L. Light)
- 9) Urethanum; Aethylurethan $\text{H}_2\text{N} \cdot \text{CO}_2 \cdot \text{C}_2\text{H}_5$ - Molekulargewicht 89,10 (E. Merck, Darmstadt)
- 10) Colchizin krist. (C. Roth)
- 11) Sinalost (Stickstofflost) (Nordmark-Werke, Hamburg)

Die Bäckerhefe und die Testsubstanzen wurden für die Dilutionsteste und für die Bestimmungen der Generationszeit in einem Czapek-Dox-Medium (CDM) und für die Warburg-Versuche in einer 0,5%igen Glukose-Lösung suspendiert bzw. gelöst.

Methoden:

Für die Untersuchungen wurden folgende Verfahren angewandt:

- a) Bestimmung der antimikrobiellen Wertigkeit.
- b) Die Beeinflussung von Atmung und Gärung im Warburg-Versuch.
- c) Bestimmung der Generationszeit

Ad a)

Es war von besonderem Interesse, die Testsubstanzen in solchen Konzentrationen zu verwenden, welche selbst keine Hemmung der Zellvermehrung bewirken. Zur Ermittlung der diesbezüglichen Konzentrationsbereiche wurden Dilutionsteste mit geometrischen Verdünnungsstufen durchgeführt.

Die Testsubstanzen wurden in einer möglichst hohen Konzentration gelöst. Die Löslichkeit war bei vielen Substanzen sehr beschränkt. Ein Dilutionstest mit Sinalost entfiel als einzige Ausnahme. Die Testlösungen wurden auf Neutralität eingestellt und durch Porzellankerzen steril filtriert. Nach Sterilitätskontrolle wurden die Testreihen bei 30° C bebrütet und das Ergebnis nach 24 Stunden abgelesen.

Ad b)

Im Warburg-Versuch wurde sowohl die Beeinflussung der Atmung als auch die der Gärung untersucht.

Die Hefen, welche für die Bestimmung des O_2 -Verbrauchs benutzt wurden, sind in folgender Weise vorbehandelt worden.

50 g Hefe wurden in 1000 ml 0,5%iger Glukose-Lösung suspendiert und diese Suspension in einer Flasche mit einem Fritten-Filter mit Preßluft eine Stunde lang belüftet. Die abfiltrierten Hefen wurden eingewogen und in einer 0,5%igen Glukose-Lösung suspendiert (2,5 mg Hefe/ml). Davon wurden in jedes Warburg-Kölbchen 2,0 ml gegeben. Die Ansatzstutzen enthielten 0,5 ml der Testlösung mit verschiedenen Konzentrationen. Bei der Bestimmung des O_2 -Verbrauchs enthielt der Zentralzylinder des Kölbchens 0,2 ml einer 32%igen NaOH auf einem kleinen Filterpapierfächer.

Bei der Untersuchung der Gärungsbeeinflussung wurde statt NaOH 0,2 ml Aqua dest. zugegeben, um das Einfüllvolumen konstant zu halten. Für diese Untersuchungsreihen ist die Bäckerhefe nicht besonders vorbereitet worden. In einer Reihe von Vorversuchen war festgestellt worden, daß die Gärung besser ablief, wenn die Hefezellen nicht einer Vorgärung unterzogen worden waren.

Die aeroben Versuche liefen in Gegenwart von O_2 und die anaeroben in Gegenwart von N_2 ab.

In die eingefüllten Kölbchen einer jeden Versuchsreihe wurde für die Dauer von 5 Minuten O_2 bzw. N_2 gleichzeitig über ein Gasverteilungsrohr eingeleitet. Während dieser Zeit standen die Kölbchen noch nicht im Wasserbad. Danach wurden alle Kölbchen nach Schließen des Systems in das Wasserbad von 30° C gegeben. Nach Erreichung des Temperatenausgleiches wurde das System ganz kurz geöffnet, damit ein Druckausgleich erfolgen konnte. Von diesem Moment an begann die Messung.

Das Warburg-Gerät (Fa. B. Braun, Melsungen) wurde auf eine Schüttelfrequenz von 100/Min bei der Amplitude 3 eingestellt.

Da die Kölbchen mit O_2 bzw. N_2 gefüllt waren, konnte das System während des Versuchs nicht mehr geöffnet werden, deswegen war nach dem Ausfall der Vorversuche die Einsaatdosis von Bäckerhefe so eingestellt worden, daß eine Öffnung während der Versuchsdauer von 90 Minuten nicht erforderlich war.

Das Zukippen der im Ansatzstutzen sich befindenden Testlösung erfolgte nach einer Versuchsdauer von 20 Minuten.

Die abgelesenen Werte wurden mit dem auf die einzelnen Systeme ausgerechneten Faktor multipliziert. Dann wurde der O_2 -Verbrauch bzw. die CO_2 -Bildung in Form einer Summenkurve durch Addition der O_2 -Zehrung bzw. der CO_2 -Bildung registriert.

Der biologische Effekt ist dann in der Differenz von Versuch und Kontrolle sichtbar.

Nach jedem Versuch wurden die Schliffe mit Benzol oder Aceton entfettet

und die Kolbenhen durch Eintauchen in Chromschwefelsäure, Neutralisation mit Ammoniakwasser und reichliches Spülen mit Aqua dest. gereinigt.

Die Berechnung des absoluten O_2 -Verbrauchs bzw. der CO_2 -Bildung erfolgte nach den Gasgesetzen durch Konstanthalten des Volumens, das den Inhalt von Kolbenhen und Manometer bis zu einer bestimmten Marke umfaßt. Die Differenz der beiden Manisken ist umgekehrt proportional dem Kolbendruck. Demnach ist, je größer die Differenz ist, der Druckabfall bzw. -anstieg um so größer.

Die allgemeine Gasgleichung für ideale Gase lautet:

$$\frac{P_0 \cdot V_0}{T_0} = \frac{P \cdot V}{T}$$

Es bedeutet: P_0 = Gasdruck bei $0^\circ C$ ($273^\circ K$)
 V_0 = Gasvolumen bei $0^\circ C$ ($273^\circ K$)
 T_0 = Temperatur bei $0^\circ C$ ($273^\circ K$)
 P = Gasdruck bei $t^\circ C$
 V = Gasvolumen bei $t^\circ C$
 T = Temperatur bei $t^\circ C$ ($273 + t$) $^\circ K$

Aus dieser Beziehung ist für die besonderen Verhältnisse im Warburg-Kolbenhen folgende Gleichung abgeleitet:

$$x = h \cdot \frac{V_g \cdot \frac{273}{T} + V_f \cdot \alpha}{P_0}$$

$$K = \frac{V_g \cdot \frac{273}{T} + V_f \cdot \alpha}{P_0}$$

$x = K \cdot h$

Dabei bedeutet:

h = Differenz der Manisken der Brodiesäule nach dem Einstellen auf die Einstellmarke.
 x = Gasmenge in mm^3 , die im Verlauf des Versuches verbraucht wird, reduziert auf Normalbedingungen ($0^\circ C$ und 760 mm Hg).
 V_g = Volumen der Gasphase im Warburg-Kolbenhen und Manometer bis zur Einstellmarke.
 P_0 = 760 mm Hg gemessen in $760 \cdot \frac{\sigma \text{ Hg}}{\sigma \text{ Brodielösung}}$
 V_f = Volumen der Flüssigkeit

T = Absolute Temperatur

α = Physikalisch gelöstes Gas in der Kőlbchenflüssigkeit (ml/ml Flüssigkeit bei 760 mm Hg)

Ad c)

In den Warburg-Versuchen wurden Wirkstoffkonzentrationen benutzt, welche die Vermehrung der Zellen nicht hinderten. Da die Versuchsdauer im Warburg-Versuch 90 Minuten dauerte, war gegebenenfalls damit zu rechnen, daß die Latenzzeit überschritten wird. Es war deswegen daran zu denken, daß auch dann durch die Testsubstanzen eine Beeinflussung der Generationszeit stattfindet, wenn durch die Dilutionsteste - einer recht groben Bewertungsmethode - nach der langen Inkubationszeit von 24 Std. keine Hemmung beobachtet wurde. Deswegen mußte geklärt werden, ob eine Beeinflussung des O_2 -Verbrauchs bzw. der CO_2 -Bildung durch die Testsubstanzen auf eine Veränderung der Generationszeit zurückzuführen ist.

Prinzipiell wurde bei der Aufstellung von Wachstumskurven, aus deren Werten die Generationszeit berechnet wurde (Squires und Hartsell) so vorgegangen, daß die Testlösungen in den gewünschten Konzentrationen in CDM gelöst wurden (Kontrolle ohne Teststoffe). Die Kulturen wurden im Wasserbad bei $30^{\circ}C$ inkubiert.

Die Versuchs- und Kontrollreihen wurden stets mit der gleichen Einsaat von Bäckerhefe angesetzt, um die sonst bei verschiedenen Ansätzen auftretenden Einsaatdifferenzen zu vermeiden. Im aeroben Versuch wurde O_2 durch dieselbe Ausgangsleitung nach Gabelung über ein am Boden des Kulturgefäßes sich befindendes Fritten-Filter in Versuch und Kontrolle eingeleitet. Dadurch wurde erreicht, daß in Versuch und Kontrolle eine gleichmäßige Beschickung mit O_2 stattfand und - was für die nachfolgende Zählung von Bedeutung ist - die Hefesuspension in ziemlich guter und gleichmäßiger Verteilung gehalten.

Vorversuche hatten ergeben, daß bei Verwendung von steriler Luft aus der zentralen Druckluftanlage zu große Druckschwankungen auftraten.

In analoger Weise wurden die Versuche mit N_2 ausgeführt.

In Abb.1 ist das Schema dieser Anordnung wiedergegeben.

Von 0 bis 5 Stunden wurde stündlich eine Probe entnommen und die Zellzahl nach adaequater Vorverdünnung in der Thoma-Kammer bestimmt.

Die Berechnung der Generationszeit (s.o.) erfolgte nach der Formel:

$$g = \frac{t}{k (\log B - \log A)}$$

Dabei ist

- g = Generationszeit in Stunden
- t = die Zeit zwischen B und A in Stunden
- k = 3,32
- A = die Zellkonzentration zu einem frühen Zeitpunkt der logarithmischen Wachstumsphase
- B = die Zellkonzentration zu einem späteren Zeitpunkt der logarithmischen Wachstumsphase

Von einer Bestimmung der sog. Lebendkeimzahl mit Ausstrichen auf festen Nährböden wurde abgesehen, da die Hefen sich durch Sprossung vermehren und deswegen der Fehler bei einer Zählung der gewachsenen Kolonien zu groß wird.

Bei der mikroskopischen Bestimmung der Zellkonzentration lassen sich dagegen alle einzelnen Zellen einer Zellanhäufung erfassen. Ein Fehler liegt hierbei lediglich in der Verteilung der Zellen in der Suspension, ein Fehler, der aber weitgehend reduziert wird durch die beschriebene Art der Belüftung.

IV. ERGEBNISSE

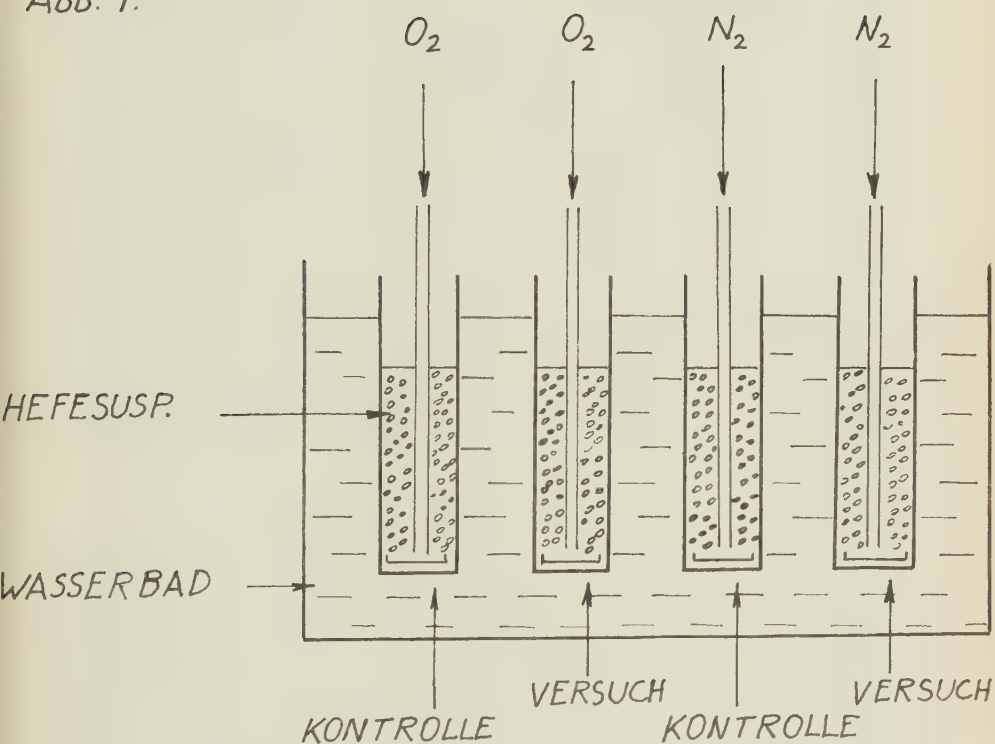
1) Dilutionsteste:

Die Dilutionsteste, die mit geometrischen Verdünnungsstufen angesetzt wurden, enthielten im jeweils ersten Röhrchen folgende Konzentrationen an Testsubstanzen und hatten den ebenfalls in Tab.1 wiedergegebenen Hemmwert.

Tab. 1
Ergebnis der Dilutionsteste

Testsubstanz	Konzentration in mg/ml	Hemmwert (mittl. Grenzwert)
	1. Röhrchen	in mg/ml
PE	20,0	3,75
o-CPA	2,0	> 2,0
a-NAA	2,0	> 2,0
p-CPA	2,0	> 2,0
4-AGA	2,0	> 2,0
y-InBA	2,0	> 2,0
3-IAA	2,0	> 2,0
6-MP	0,5	> 0,5
Urethan	2,0	> 2,0
Colchizin	2,0	> 2,0
Sinalost	nicht ausgetestet	

Abb. 1.



O₂-VERBRAUCH IN ml/min

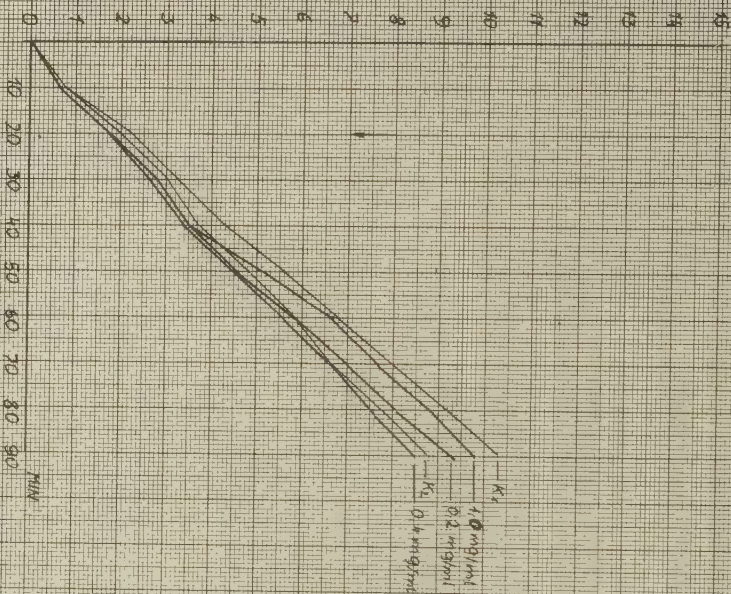


Abb. 2. ATMUNG VON BÄCKERHEFE IN GLEICHWART

VON PE

CO₂-BILDUNG IN ml/min

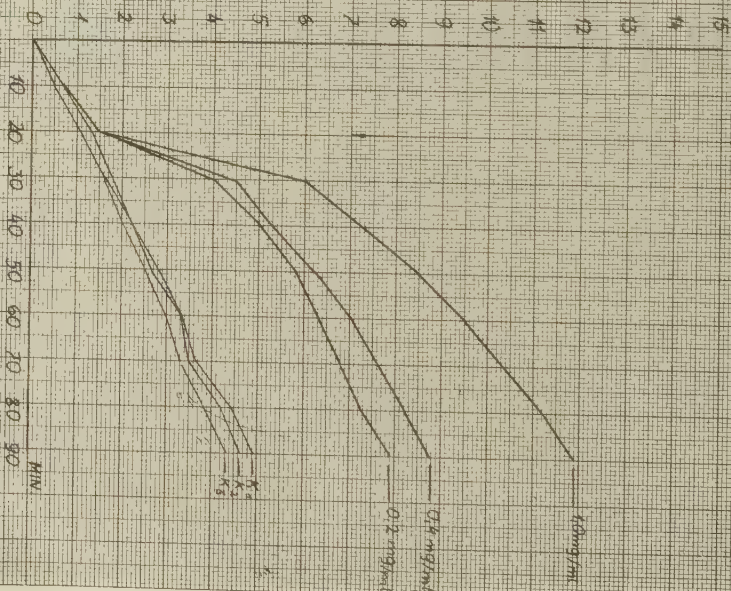
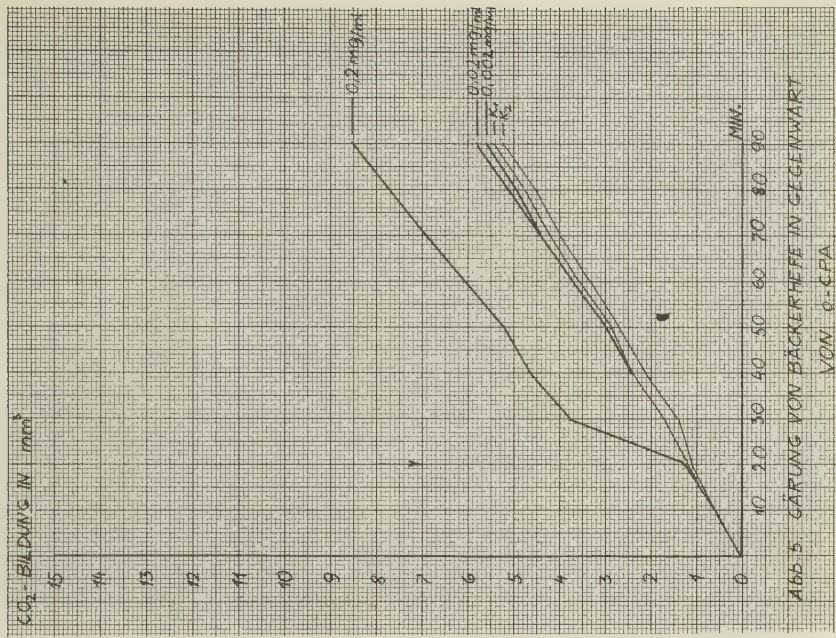
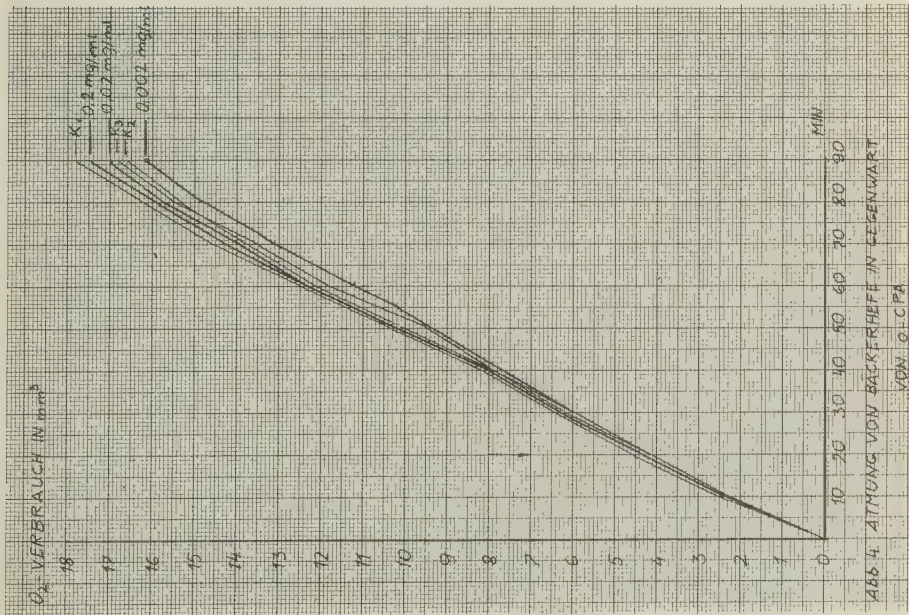


Abb. 3. GÄRUNG VON BÄCKERHEFE IN GLEICHWART

VON PE



O₂-VERBRAUCH IN mm³

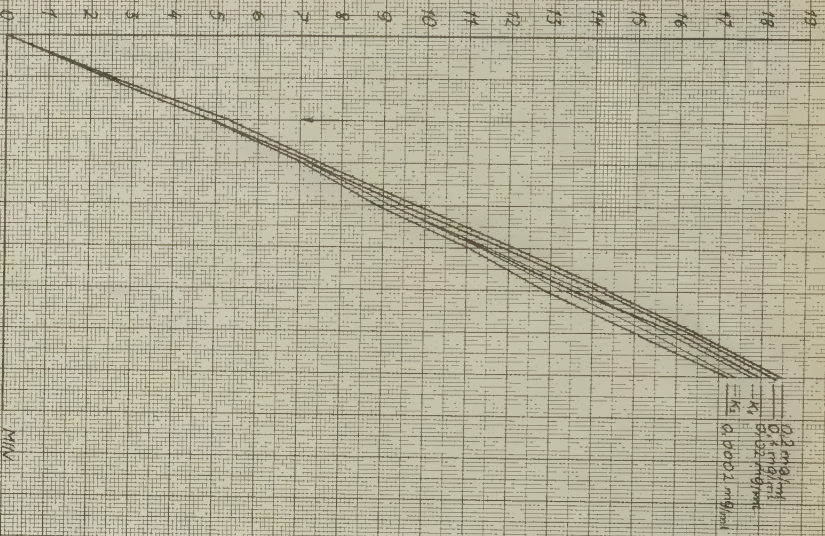


Abb. 6 ATMEN VON BÄCKERHEFE IN GEGENWART

VON O₂-NAA

CO₂-BILDUNG IN mm³

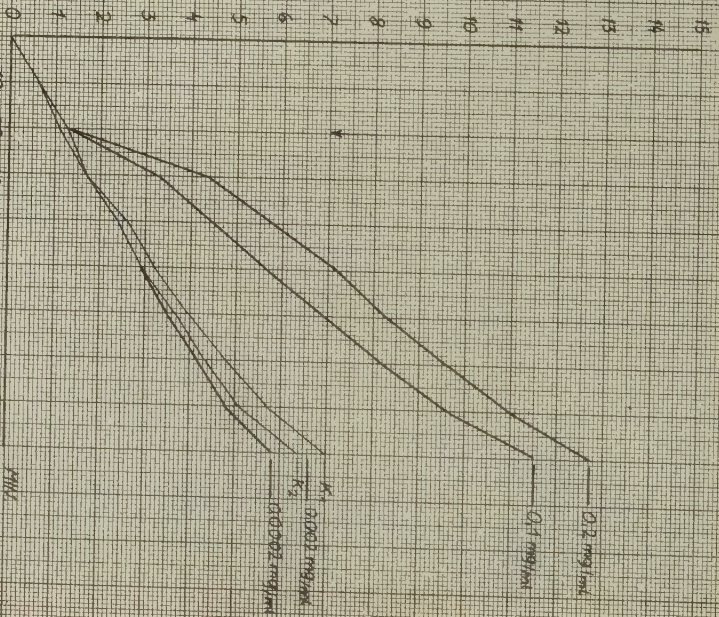
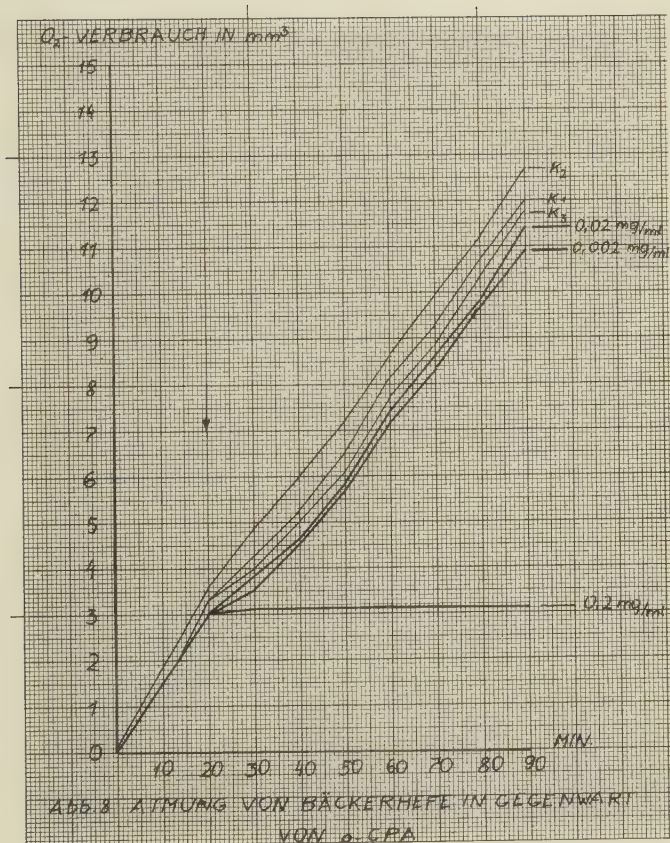


Abb. 7 GÄRUNG VON BÄCKERHEFE IN GEGENWART

VON O₂-NAA





Aus Tab.1 ist zu entnehmen, daß alle untersuchten Testsubstanzen mit Ausnahme von PE in den verwendeten Konzentrationen keinen bakteriostatischen Effekt hatten. Lediglich PE hemmte die Zellvermehrung bei einer Konzentration von 3,75 mg/ml.

2) Ergebnis der Warburg-Versuche:

Die Untersuchungsergebnisse über eine Beeinflussung von Atmung und Gärung im Warburg-Versuch sind in Abb.2-23 wiedergegeben. Grundsätzlich sind dabei die verwendeten Wirkstoffkonzentrationen als Endkonzentrationen im Gesamten Ansatz auf den einzelnen Abbildungen wiedergegeben. Sämtliche Versuche wurden mindestens zweimal, meist aber drei- bis viermal ange-setzt. Nur bei einer prinzipiellen Übereinstimmung der Resultate wurden diese zu einer Aussage herangezogen. Damit sollte das Nichtfunktionieren einzelner Ansätze oder Manometer als Fehlerquelle ausgeschaltet werden.

Die Beeinflussung von Atmung und Gärung von Bäckerhefe in Gegenwart verschiedener Konzentrationen von PE ist in Abb.2 und 3 dargestellt.

Aus Abb.2 ist zu entnehmen, daß die Atmung auch durch die höchste PE-Konzentration im Verhältnis zur Kontrolle praktisch nicht beeinflusst wird. Dies gilt besonders dann, wenn man berücksichtigt, daß bei den mehrfach angesetzten Kontrollen auch eine gewisse Streuung zu beobachten ist.

Aus Abb.3 ist deutlich zu entnehmen, daß die Gärung von Bäckerhefe durch PE konzentrationsabhängig gefördert wird. Dieses Ergebnis war in Wiederholungsversuchen reproduzierbar.

Eine pH-Wirkung kann bei diesem Resultat ausgeschlossen werden, da der pH-Wert der PE-Lösung auf den pH-Wert des Mediums eingestellt worden war.

In Abb.4 und 5 ist der Einfluß von o-CPA auf Atmung und Gärung von Bäckerhefe wiedergegeben.

Aus Abb.4 ist zu entnehmen, daß diese Testsubstanz die Atmung nicht beeinflusst.

Die Gärung dagegen (Abb.5) wird, wenn auch nur durch die höchste Konzentration von 0,2 mg/ml (Endkonzentration) gefördert.

a-NAA verhält sich ganz ähnlich wie o-CPA. Auch hier haben die verwendeten Konzentrationen (Höchstkonzentration 0,2 mg/ml) keinen Effekt auf die Atmung, dagegen wird die Gärung durch die beiden höchsten Konzentrationen von 0,2 mg/ml und 0,1 mg/ml gefördert (Abb.6 und 7).

Die Ergebnisse mit p-CPA sind in Abb.8 und 9 wiedergegeben.

Aus Abb.8 ist zu entnehmen, daß nur die höchste Konzentration von 0,2 mg/ml einen Effekt auslöst. Dabei ist allerdings zu sagen, daß mit der Zu-

gabe der Testsubstanz die Atmung, d.h. der O_2 -Verbrauch, völlig sistiert. Zu betonen ist, daß bei derselben Konzentration im Dilutionstest durchaus noch eine Zellvermehrung, kenntlich an einer vermehrten Satzbildung, eintrat (s. auch unten die Ergebnisse bei der Bestimmung der Generationszeit). Aus Abb.9 ist zu entnehmen, daß ebenfalls bei der höchsten Konzentration von 0,2 mg pro ml auch die Gärung gehemmt, wenn auch nicht völlig aufgehoben wird.

In Abb.10 und 11 sind die Ergebnisse mit 4-AGA wiedergegeben.

Die Atmung scheint etwas beschleunigt zu werden. Allerdings sind die Unterschiede zur Kontrolle so gering, daß man sie nicht als bezeichnend ansprechen kann. Mehrere Wiederholungen dieser Versuchsserie ergaben auch, daß die Kurven im Bereich der Kontrollkurven streuen (Abb.10).

Abb.11 zeigt, daß die CO_2 -Bildung nur in Gegenwart der höchsten Konzentration von 0,2 mg/ml gegenüber der Kontrolle zunimmt. Auch diese Differenz ist sehr gering, doch ließ sie sich bei Wiederholungen reproduzieren.

Die Ergebnisse mit γ -InBa sind in Abb.12 und 13 wiedergegeben.

Atmung und Gärung sind im gleichen Maße nur durch die höchste Konzentration von 0,2 mg/ml in reproduzierbarer Weise gehemmt.

Die Versuche mit 3-IAA sind in Abb.14 und 15 wiedergegeben.

Aus Abb.14 ist zu entnehmen, daß bis zu einer Endkonzentration von 2,0 mg/ml gegenüber der Kontrolle der O_2 -Verbrauch nicht verändert wurde. Die Höchstkonzentration allein ergab aber eine erhöhte CO_2 -Bildung (Abb.15).

Die Versuche mit 6-MP sind in Abb.16 und 17 wiedergegeben.

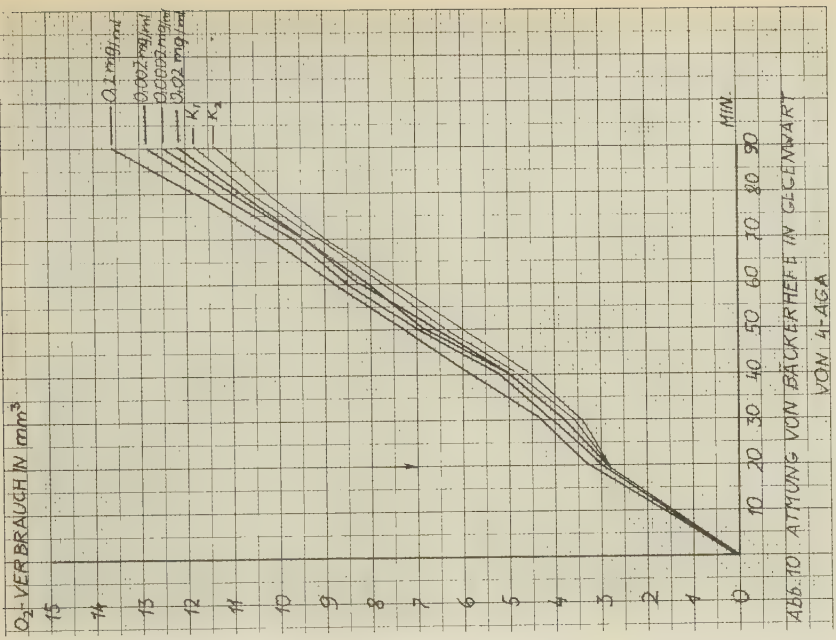
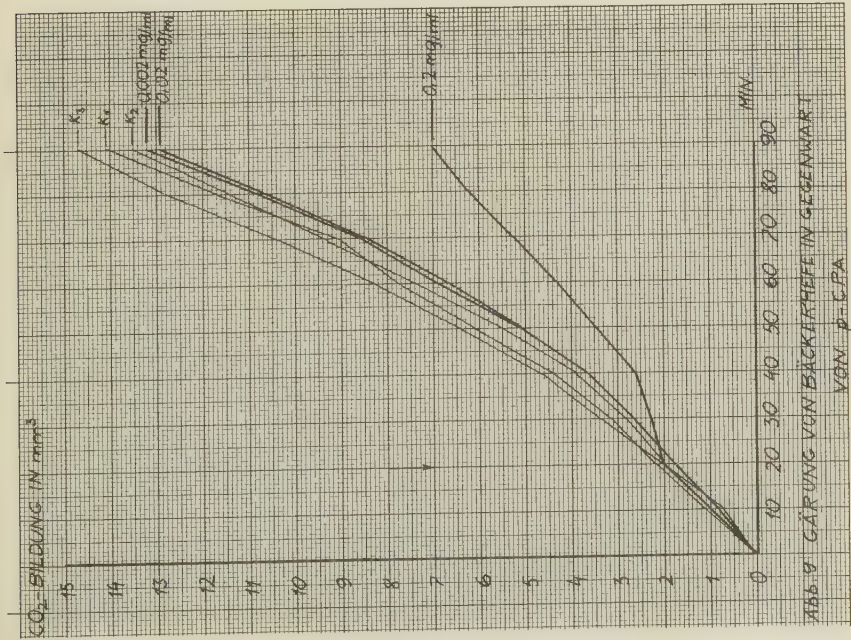
Die Atmung wird durch alle verwandten Konzentrationen nicht beeinträchtigt (Abb.16). Dagegen war eine gewisse Konzentrationsabhängigkeit der Erhöhung der CO_2 -Bildung zu beobachten.

Dabei ist besonders zu berücksichtigen, daß die höchste Konzentration von 0,05 mg pro ml wesentlich kleiner war als bei den übrigen vorgenannten Versuchen.

Die Versuche mit Urethan ergaben, daß weder die Atmung noch die Gärung bis zu einer Konzentration von 0,2 mg/ml beeinflußt wurden. Lediglich bei einer Konzentration von 0,4 mg/ml wurde etwas höhere CO_2 -Bildung (Abb.16), jedoch keine Veränderung des O_2 -Verbrauchs (Abb.18), beobachtet.

Colchizin beeinflusste bis zu einer Konzentration von 0,2 mg/ml die Atmung nicht (Abb.20). Lediglich die CO_2 -Bildung wurde durch diese Konzentration etwas beschleunigt (Abb.21). Dies wurde durch einen Wiederholungsversuch bestätigt.

Die Ergebnisse mit Sinalost sind in Abb.22 und 23 wiedergegeben.



CO_2 -BILDUNG IN mm^3

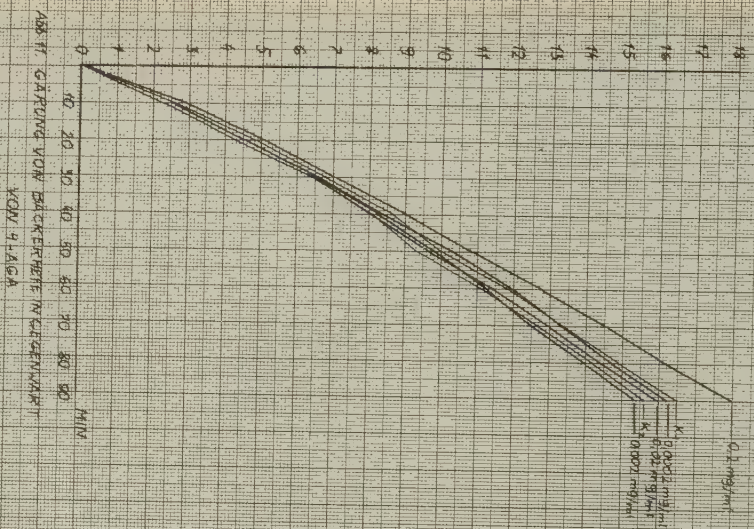


Abb. 11 GÄHRUNG VON BÄCKERHEFE IN GEGENWART VON H_2LAGA

O_2 -VERBRAUCH IN mm^3

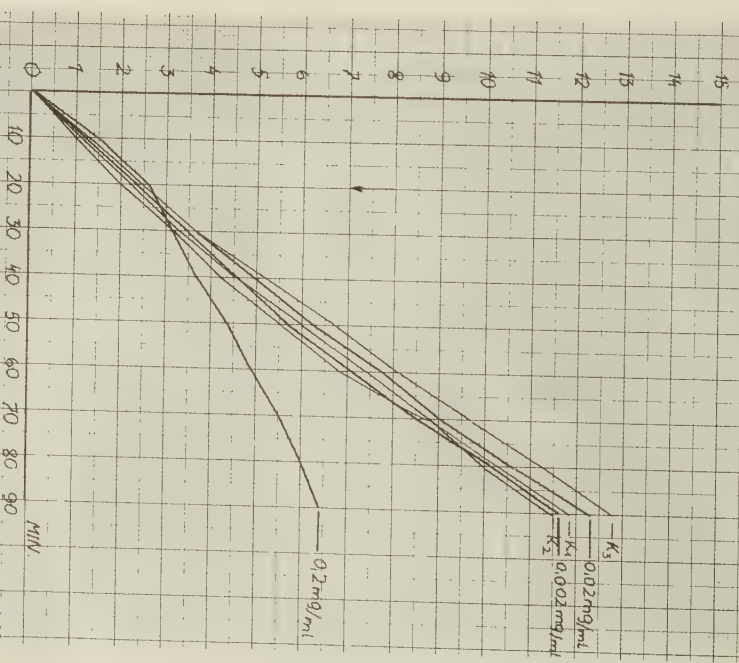
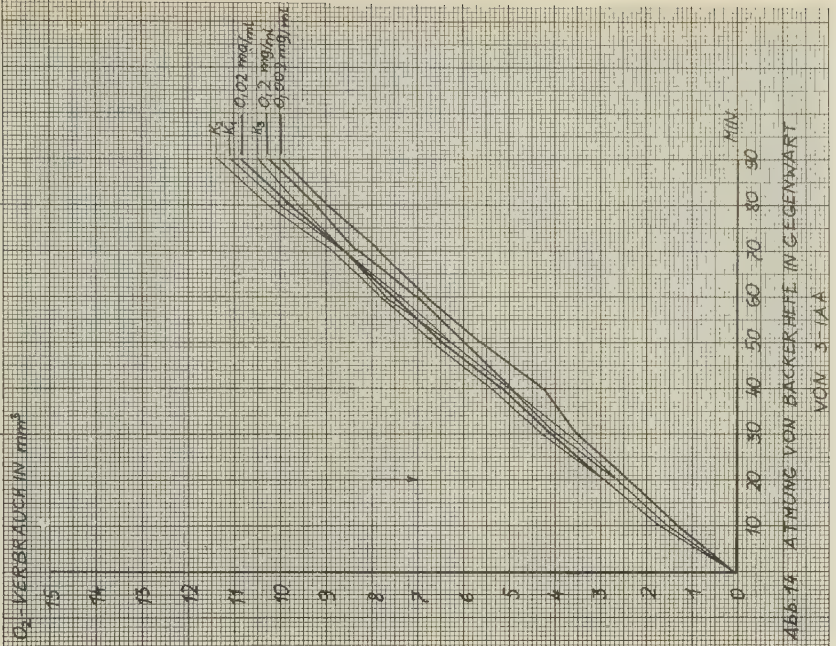
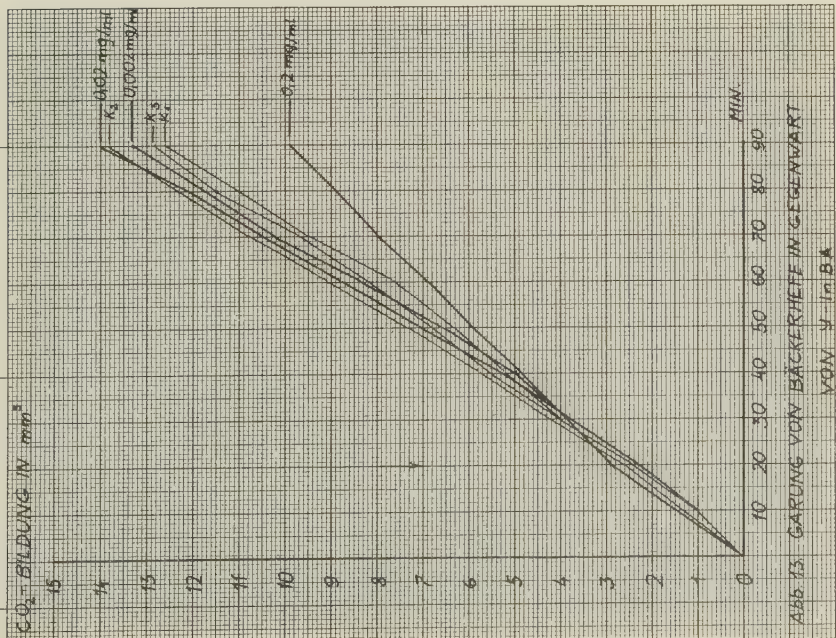


Abb. 12 ATMUNG VON BÄCKERHEFE IN GEGENWART VON Y-in-13A



CO₂-BILDUNG IN mm³

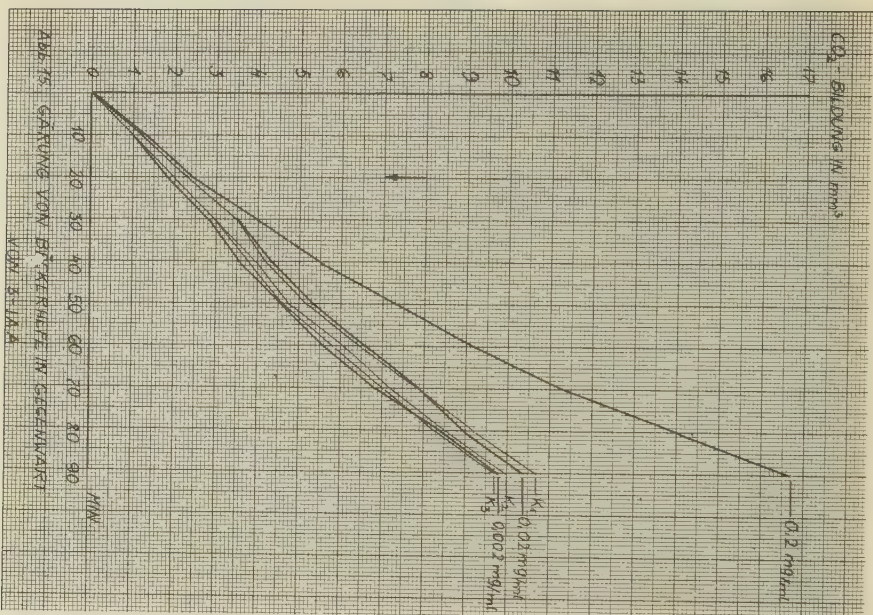


Abb. 15
GÄRUNG VON BÄCKEREIHEFE IN GEGENWART
VON 3-IAA

O₂-VERBRAUCH IN mm³

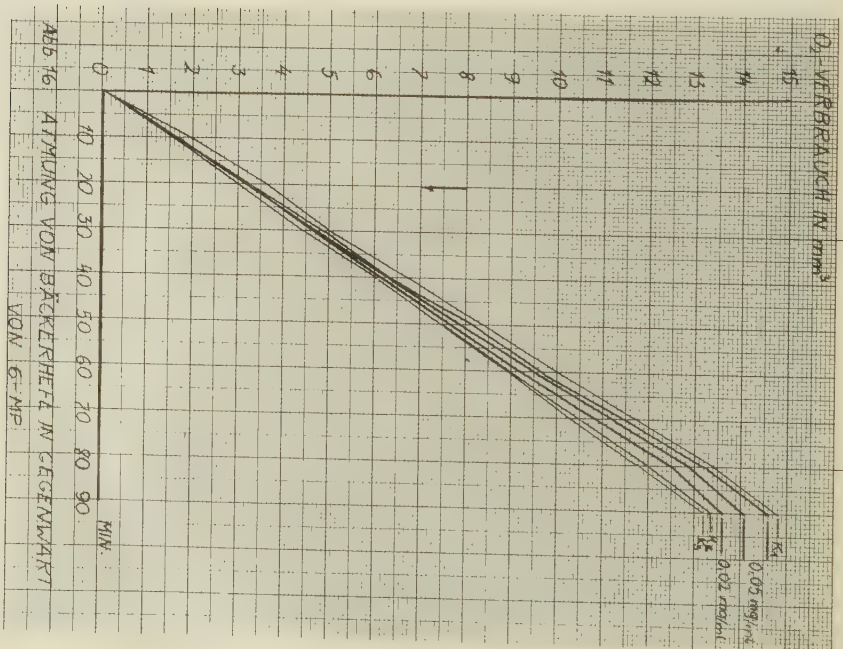
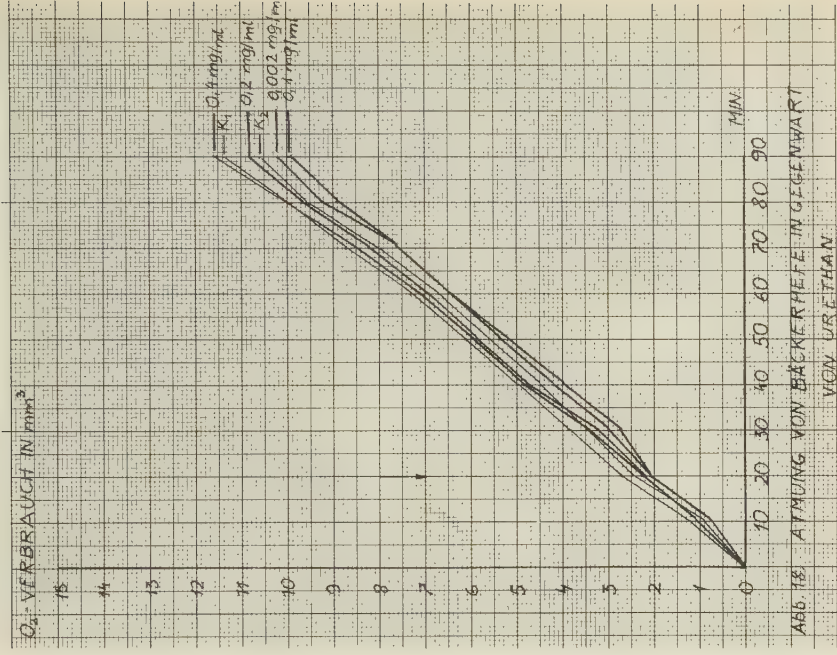
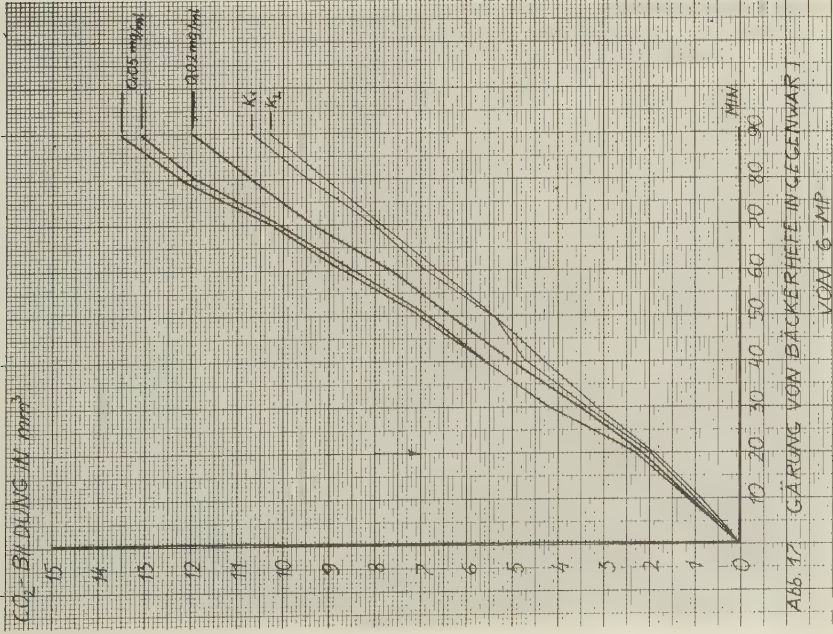
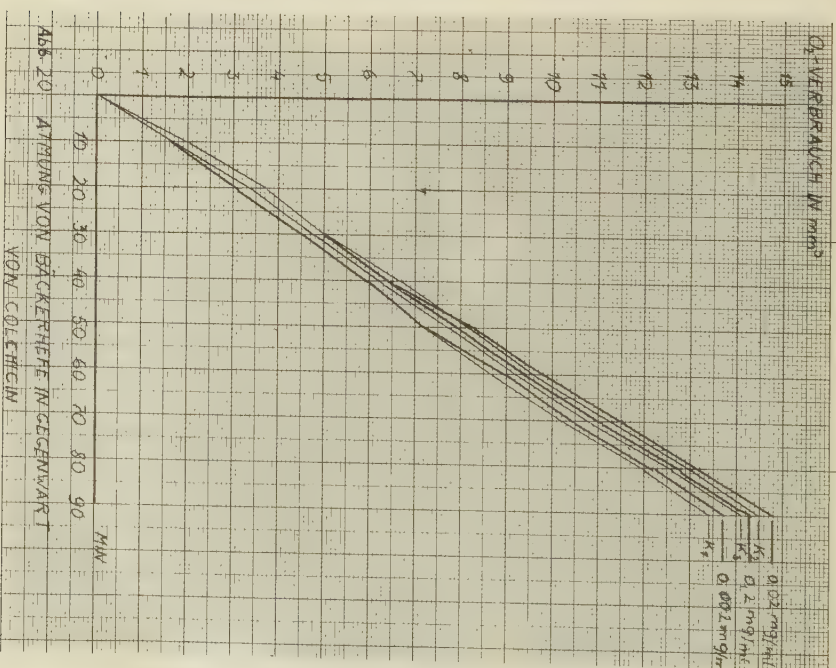
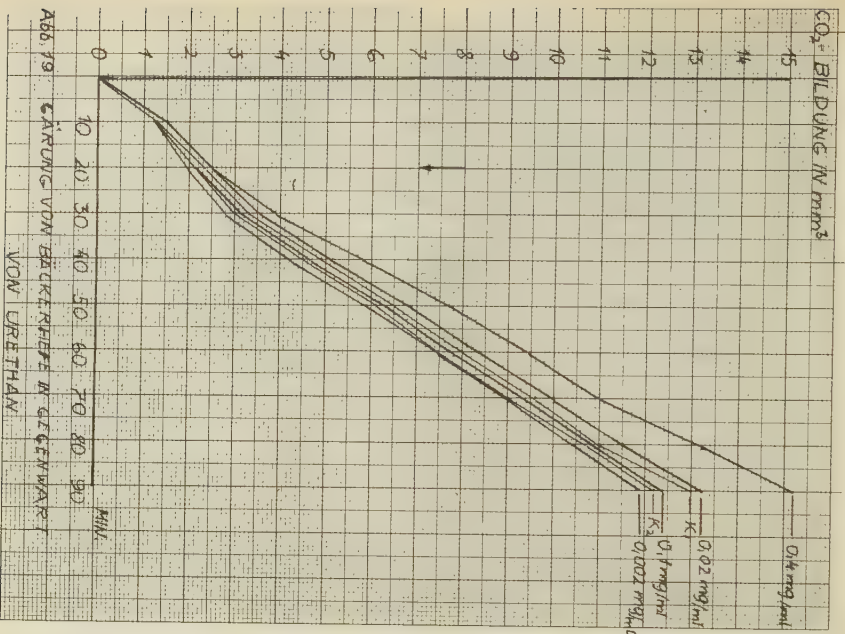
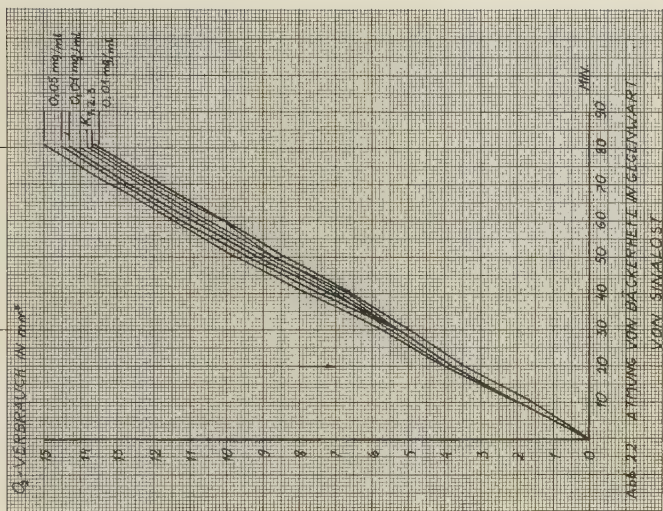
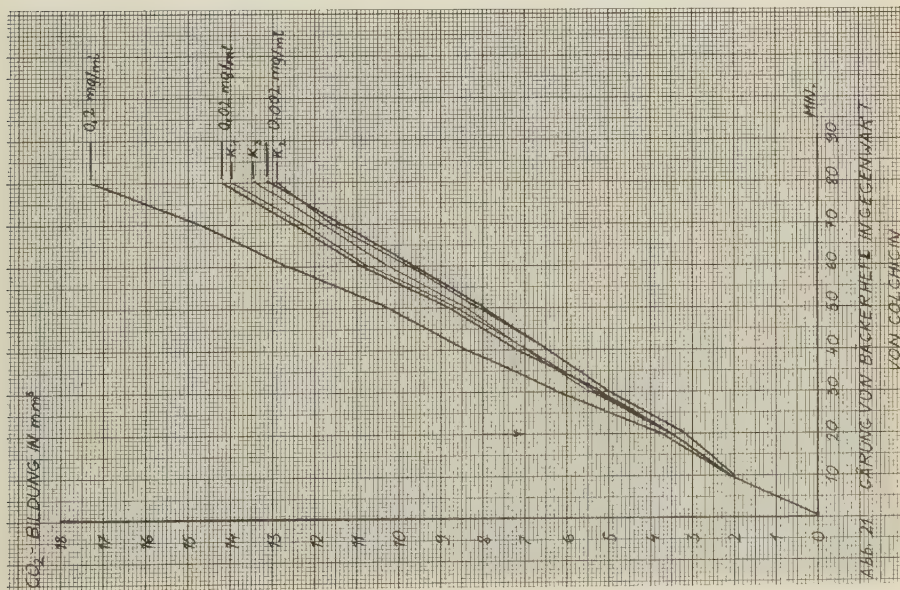
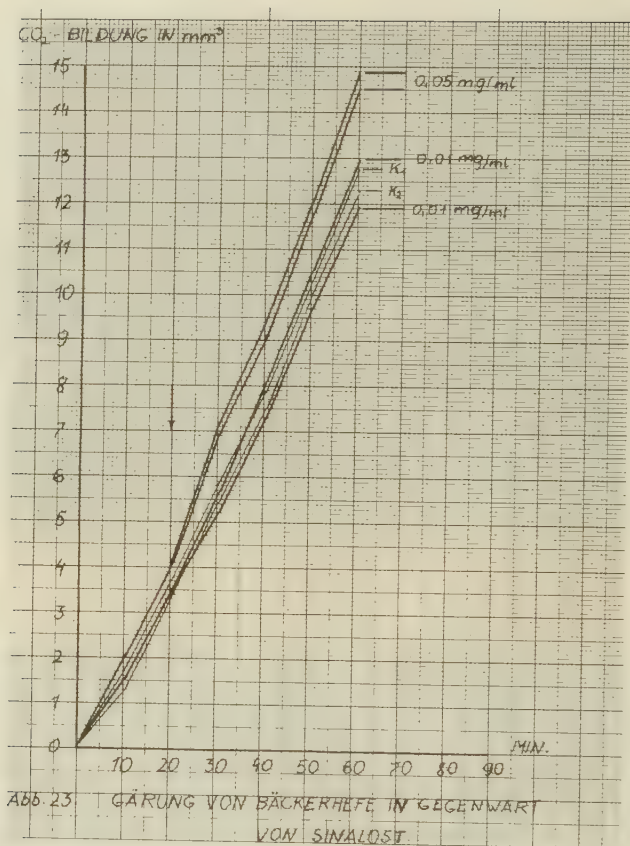


Abb. 16
ATMUNG VON BÄCKEREIHEFE IN GEGENWART
VON 6-MP









Die Atmung wurde durch Sinalost bis zu der höchsten Konzentration von 0,05 mg/ml nicht beeinflusst (Abb. 22). Dagegen scheint die CO₂-Bildung etwas erhöht zu werden (Abb. 23). Das letztgenannte Ergebnis wurde entsprechend der Abb. 23 einige Male erzielt, jedoch gab es auch Versuche, bei denen dieses Ergebnis nicht ebenso deutlich auftrat.

Die Vielzahl dieser Versuche ist schematisch in Tab.2 wiedergegeben.

Tab. 2

Schematische Darstellung aller Ergebnisse der Warburg-Versuche

Endkonzentrationen mg/ml

Teststoffe

O_2 - Verbrauch

	1,0	0,4	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01	0,002	0,0002
PE	0	0	0						
o-CPA			0			0		0	
a-NAA			0	0				0	0
p-CPA			-			0		0	0
4-AGA			(+)			0		0	0
y-InBA			-			0		0	0
3-IAA			0			0		0	
6-MP					0	0			
Urethan		0		0		0		0	
Colchizin			0			0		0	
Sinalost					0		0		

CO₂ - Bildung

PE	+	+	+				
o-CPA			+		0		0
a-NAA			+	+		0	0
p-CPA			-		0	0	0
4-AGA			+		0	0	0
γ-InBA			-		0	0	0
3-IAA			+		0	0	
6-MP				+	+		
Urethan	+			0	0	0	
Colchizin			+		0	0	
Sinalost				+		0	

Zeichenerklärung:

+	=	Steigerung)	gegenüber der Kontrolle
-	=	Minderung)	
0	=	keine Veränd.)	

3) Bestimmung der Generationszeit:

Die Generationszeit wurde mit der eingangs angegebenen Formel ermittelt, wobei die mikroskopisch in der logarithmischen Wachstumsphase festgestellten Zellkonzentrationen benutzt wurden. Dazu wurden mit den Zellkonzentrationen Wachstumskurven ausgestellt. Sie sind hier nicht wiedergegeben. In Tab.3 sind dagegen die einzelnen Zellkonzentrationen, die zur Berechnung der Generationszeit erforderlich sind, verzeichnet.

Aus den Kurven waren die Zeitwerte ersichtlich, in denen die logarithmischen Wachstumsphase lag. Es konnte stets so vorgegangen werden, daß die Veränderung der Zellkonzentration zwischen 2 und 5 Stunden nach Versuchsbeginn herangezogen wurde.

Tab. 3

Vermehrung von Bäckerhefe in Gegenwart von Testsubstanzen

Teststoffe	Atmung bzw. Gärung	Versuch (V) bzw. Kontrolle (K)	Zellkonzentration = Zahl x 10 ⁶ /ml Stunden nach Versuchsbeginn					
			0	1	2	3	4	5
PE	O ₂	K	6,2	6,2	11,4	20,7	29,6	46,5
		V	6,2	6,3	11,2	18,9	28,4	40,5
	CO ₂	K	6,1	6,1	10,8	18,9	28,8	45,5
		V	6,0	6,1	10,8	16,8	26,0	42,0
o-CPA	O ₂	K	5,9	6,0	11,6	18,0	28,0	45,0
		V	6,2	6,2	11,0	18,0	27,5	43,5
	CO ₂	K	6,0	6,1	12,0	18,3	28,3	46,5
		V	6,4	6,3	11,6	18,1	28,1	42,3
a-NAA	O ₂	K	6,4	6,5	10,4	13,2	20,6	26,2
		V	6,3	6,3	11,0	12,9	21,1	26,0
	CO ₂	K	7,2	7,1	8,8	12,3	20,1	25,0
		V	6,8	6,9	8,4	12,6	18,8	25,2
p-CPA	O ₂	K	6,2	6,3	9,8	14,7	24,0	30,8
		V	6,2	6,0	11,2	15,0	22,0	31,3
	CO ₂	K	6,5	6,4	9,9	13,8	24,0	30,8
		V	6,7	6,5	9,4	15,3	22,5	30,2

Fortsetzung Tab.3

Teststoffe	Atmung bzw. Gärung	Versuch (V) bzw. Kontrolle (K)	Zellkonzentration = Zahl x 10 ⁶ /ml Stunden nach Versuchsbeginn					
			0	1	2	3	4	5
4-AGA	O ₂	K	6,0	6,2	9,6	12,9	17,2	25,0
		V	6,5	6,6	9,0	12,9	16,8	24,9
	CO ₂	K	6,6	6,5	9,2	13,2	17,6	26,0
		V	6,5	6,5	9,4	13,3	16,4	25,5
γ-InBA	O ₂	K	6,2	6,3	10,4	13,8	19,6	29,0
		V	6,4	6,3	10,2	13,8	19,3	27,5
	CO ₂	K	6,5	6,3	10,4	13,7	20,0	28,0
		V	6,3	6,3	10,5	13,6	20,4	28,6
3-IAA	O ₂	K	6,2	6,3	10,2	13,5	22,0	36,0
		V	6,4	6,4	10,0	15,0	20,5	35,0
	CO ₂	K	6,4	6,4	9,4	13,0	19,2	33,8
		V	6,5	6,5	9,4	12,8	19,4	32,9
6-MP	O ₂	K	6,0	6,0	9,5	14,7	22,8	32,5
		V	5,8	6,0	9,0	13,5	21,5	30,8
	CO ₂	K	5,7	5,9	9,2	13,8	21,9	31,2
		V	6,2	6,0	9,5	14,2	22,0	32,4
O ₂	K	6,1	6,2	11,2	15,3	21,2	27,5	
	V	6,4	6,4	10,4	15,6	21,9	28,0	

Colchizin	O ₂	K	6,4	6,4	9,0	15,5	23,6	29,5
		V	6,2	6,2	9,2	15,3	22,8	28,5
	CO ₂	K	6,5	6,5	9,0	15,8	24,0	30,0
		V	6,8	6,9	9,6	16,0	24,4	31,0
Sinalost			wurde		nicht	ausgetestet		

Die in Tab. 3 angeführten Zahlen wurden mit $t_2 = 5$ Std.; $t_1 = 2$ Std. (also $t = 3$ Std.) zur Berechnung der Generationszeit herangezogen.

Die Generationszeiten bei den einzelnen Versuchen sind in Tab. 4 wiedergegeben.

Tab. 4

Bestimmung der Generationszeit

Teststoffe	Konz. in mg/ml	O ₂ -Kontrolle	O ₂ -Versuch	CO ₂ -Kontrolle	CO ₂ -Versuch
PE	1,0	88	97	87	92
o-CPA	0,2	91	91	92	96
a-NAA	0,2	135	139	120	114
p-CPA	0,2	109	120	110	107
4-AGA	0,2	126	127	121	125
y-InBA	0,2	120	125	125	125
3-LAA	0,2	99	99	101	100
6-MP	0,05	101	102	101	105
Urethan	0,4	135	130	128	132
Colchizin	0,2	102	107	105	102

Aus Tab.4 ist zu entnehmen, daß zwischen Versuch und Kontrolle bei den einzelnen Serien kein nennenswerter Unterschied besteht. Die gelegentlich beobachteten geringen Differenzen sind im Hinblick auf die ziemlich großen Werte nicht bezeichnend.

Setzt man die Bestimmung der Generationszeit in Beziehung zu den Warburg-Versuchen, dann kann gesagt werden, daß die beobachteten Veränderungen des O_2 -Verbrauchs bzw. der CO_2 -Bildung nicht zurückgeführt werden können auf eine Veränderung der Generationszeit.

IV. DISKUSSION

Die Versuche ergaben, daß im Dilutionstest mit geometrischen Verdünnungsstufen bei den verwendeten Konzentrationen, mit Ausnahme von PE, keine Hemmung des Hefewachstums auftrat. PE hatte einen mittleren Hemmwert bei 3,75 mg/ml.

Im Gegensatz dazu ergaben die Versuche mit dem Warburg-Gerät eine für die einzelnen Substanzen verschiedene Beeinflussung der Atmung (exogene Atmung) und der Gärung.

Der O_2 -Verbrauch wurde lediglich gehemmt durch die höchste verwendete Konzentration (0,2 mg/ml) von p-CPA und γ -InBA. Eine Förderung der Atmung konnte in keinem Falle festgestellt werden.

Die CO_2 -Bildung wurde ebenso wie die Atmung lediglich von p-CPA und γ -InBA gehemmt. Dagegen stimulieren alle anderen Substanzen - zumindest in den höheren Konzentrationen - die CO_2 -Bildung.

Von den Essigsäureverbindungen (PE; o-CPA; p-CPA; 3-IAA) stellte lediglich p-CPA eine Ausnahme dar.

Hinzuweisen ist auch noch darauf, daß 6-MP die CO_2 -Bildung bei ausgesprochener niedriger Konzentration (20 - 50 μ) fördert.

Die Bestimmung der Generationszeit ergab keine nennenswerte Veränderung in Anwesenheit der getesteten Stoffe.

Alle Ergebnisse zusammengezogen besagen, daß die Beeinflussung der exogenen Atmung und Gärung nicht auf eine Veränderung der Wachstumsrate zurückgeführt werden kann. Dies ist auch daraus ersichtlich, daß die Generationszeit auch in dem günstigen Milieu (CDM) verhältnismäßig lang ist, wohingegen die Versuchsdauer im Warburg-Gerät höchstens nur 90 Min. betrug. Von der Latenzphase abgesehen, ist diese Versuchsdauer mit Ausnahme der Versuche mit PE kleiner als die Generationszeit (g).

Alle Warburg-Versuche wurden mehrmals durchgeführt. Ein Zufallsbefund kann deswegen ausgeschlossen werden. Von den prinzipiell gleichen Resultaten wurde nur eine typische Kurve bzw. Versuchsserie wiedergegeben.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Untersucht wurde der Einfluß verschiedener Konzentrationen von Phenyllessigsäure (PE); o-Chloro-phenoxy-acetic-acid (o-CPA); a-Naphtalene-acetic-acid (a-NAA); p-Chloro-phenoxy-acetic-acid (p-CPA); 4-Aminopteroyl-glutamic-acid (4-AGA); γ -(3-Indolyle)-n-butyric-acid (γ -InBA); 3-Indolyle-acetic-acid (3-IAA); 6-Mercaptopurin (6-MP); Urethan, Colchizin; Sinalost auf die exogene Atmung und auf die Gärung von Bäckerhefe im Warburg-Gerät. Darüber hinaus wurde in Dilutionstesten eine mögliche Bakteristase und eine Beeinflussung der Generationszeit untersucht.

Mit Ausnahme von PE hatten im Dilutionstest alle Testsubstanzen in den verwendeten Konzentrationen keinen Hemmeffekt. Eine Beeinflussung der Generationszeit konnte nicht festgestellt werden. Die geringen Unterschiede zwischen Versuch und Kontrolle sind viel zu klein, um beweiskräftig zu sein. Dagegen wurde im Warburg-Versuch der O_2 -Verbrauch durch p-CPA und γ -InBA (0,2 mg/ml) gehemmt.

Eine Stimulierung der exogenen Atmung wurde in keinem Falle beobachtet. p-CPA und γ -InBA hemmten auch die CO_2 -Bildung, während alle anderen Testsubstanzen die CO_2 -Bildung förderten.

LITERATUR

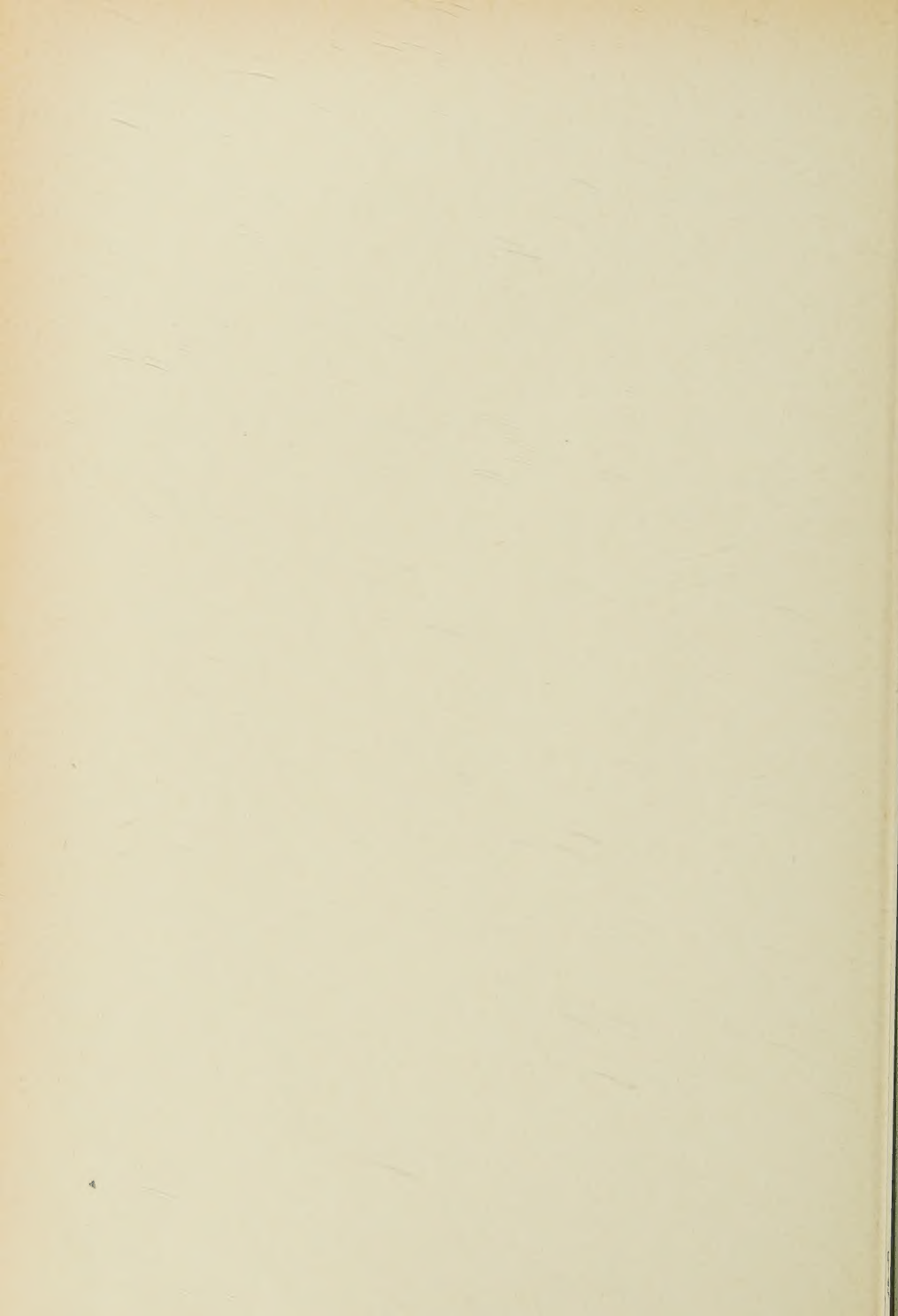
- 1) Audus, C. I. : Plant Growth Substances, L. Hill Ltd. London (1959)
- 2) Dubos, I. : Proc. Soc. exp. Biol. Med. 63, 317 (1946)
- 3) Medgyesi, G.,
K. Katona: Arch. exp. Veterinärmedizin 14, 151 (1960)
- 4) Medgyesi, G.,
M. Koller,
K. Katona: Z. Vitamin-, Hormon- u. Fermentforschung 10/5,
368 (1960)
- 5) Squires, R. W.,
S. E. Hartsell: J. Bact. 69, 226 (1955)

LEBENS LAUF

Ich wurde am 9.12.1935 als Sohn eines Pedellen in Ujpest/Ungarn geboren. Die Volksschule und das Gymnasium besuchte ich in Ujpest. Nach bestandem Abitur (1954) studierte ich an der Universität Budapest Medizin. Am 14.6.1956 habe ich das Physikum vollständig bestanden. Im Herbst 1956 verließ ich meine Heimat.

Ab Sommersemester 1957 studierte ich an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz. Zwischen dem 1. August und 19. Dezember 1960 habe ich die ärztliche Prüfung vollständig bestanden.





4987